Tome 72, fascicule 1 (à la mémoire d'Emile Guyénot), nº 7. — Avril 1965

Quelques données nouvelles sur le mécanisme de l'antagonisme épiphyso-hypophysaire — rôle possible de la sérotonine et de la mélatonine

par

A. MOSZKOWSKA

Laboratoire d'Histophysiologie, Collège de France, Paris

Avec 2 tableaux et 3 figures dans le texte

Ce travail est rédigé à la mémoire d'Emile Guyénot à qui je dois ma vocation et ma première formation de biologiste, car c'est sous sa direction et son influence ineffaçable que j'ai fait mes premiers pas dans la Recherche.

L'étude de l'épiphyse ou glande pinéale, longtemps négligée, est devenue un sujet à l'ordre du jour. Des réunions telles que le « 1er Colloque International de la Glande Pinéale » en 1962 à Clermont-Ferrand, suivi en 1963 par « l'International Round Table Conference in the Epiphysis Cerebri » à Amsterdam, témoignent de l'intérêt que présente actuellement ce problème.

Les travaux d'Ariens Kappers et coll., de Miline, ceux de Osche, de de Robertis et coll., de Quay, de Kelly, de Bertler et coll., concernant sa morphologie, son ultra structure et sa cytochimie, puis ceux de Thieblot, de Kitay, Wurtman et coll., de Farell et coll., concernant sa physiologie, pour ne citer que les plus importants, apportent des faits incontestables en faveur d'une fonction secrétoire de la glande pinéale.

Nous allons relater uniquement les résultats personnels obtenus pendant les années 1958-1963, et essayer de tirer des conclusions

afin de faire un pas en avant dans l'étude du problème que présente la fonction épiphysaire antigonadotrope dans l'axe épiphyso-hypophyso-hypothalamique.

Quand nous avons publié dans cette même revue en 1955 un mémoire sur ce même sujet, l'idée de l'antagonisme épiphyso-hypophysaire était seulement ébauchée. Au cours des années 1958-1963, nous avons pu établir un certain nombre de faits en faveur de cette hypothèse et de plus, nous avons essayé d'expliquer le mécanisme de cet antagonisme.

Nous pouvons répartir nos recherches en trois parties ou chapitres.

I. Etude de l'action des extraits épiphysaires (fraction non soluble dans l'acétone).

a) in vivo

b) in vitro

II. Etude de l'action de la sérotonine en tant que facteur épiphysaire.

a) in vivo

b) in vitro

III. Etude de l'action de la mélatonine.

a) in vivo

b) in vitro

Première Partie

ACTION DES EXTRAITS ÉPIPHYSAIRES

Matériel et méthode

Nous préparons nos extraits à partir des épiphyses de mouton, déshydratées dans l'acétone RP et conservées sous vide à —20° C, puis broyées dans un mortier en porcelaine. La poudre ainsi obtenue est reprise dans la solution physiologique de Tyrode et traitée par un agitateur magnétique pendant 15 minutes; enfin le liquide obtenu est centrifugé à 6 000 t/min., pendant 20 minutes; 1 cm^3

de cet extrait correspond à environ 8 à 10 épiphyses. Les animaux traités sont des rates Wistar provenant toujours de la même souche. Le traitement débute à 21 jours et dure 11 semaines, les groupes expérimentaux sont les suivants:

1) ♀ non traitées et exposées à la lumière du jour.
2) ♀ non traitées et exposées à une lumière constante de 80 Watts, à un mètre de distance.
3) ♀ recevant tous les 2 jours une injection de 0,5 cm³ d'extrait épiphysaire et exposées à la lumière du jour.
4) ♀ injectées de la même manière pendant 8 jours avant l'exposition à la lumière constante et pendant l'exposition à la lumière constante.
5) ♀ injectées dès le 1er jour d'exposition à la lumière constante.

Chaque groupe comprend de 7 à 10 animaux et les expériences ont été reproduites à deux reprises (1961, puis 1962).

Résultats

1º Les extraits épiphysaires retardent la date de l'ouverture vaginale chez les ♀ exposées à la lumière du jour.

2º, 3º et 4º L'œstrus permanent ou œstrus prolongé consécutif à l'exposition à la lumière constante est entravé par les extraits épiphysaires, ceci est surtout très marqué quand l'administration des extraits précède l'exposition à la lumière.

5º La diminution du poids des épiphyses des animaux éclairés artificiellement (lumière constante) est empêchée par le traitement épiphysaire.

On constate enfin que non seulement les extraits épiphysaires ont provoqué la diminution de l'œstrogène circulant, mais que le cycle ovarien normal témoigne d'un rétablissement d'équilibre FSH-LH ébranlé par l'exposition à la lumière constante.

Quoique nos résultats confirment ceux de Fiske et coll., puis ceux de Wurtman, il nous semble prématuré d'attribuer à l'épiphyse le rôle principal dans la réponse de l'hypophyse à la lumière. Dans l'enchevêtrement des réactions hypothalamo-hypophyso-gonadiques, il nous semble plus plausible d'admettre que la diminution du poids épiphysaire, (signe d'épuisement ou d'hypoacti-

vité?) est consécutive à l'hyperactivité hypophysaire et à un excès d'œstrogène circulant consécutif à l'œstrus permanent.

Fiske elle-même, observe une hypertrophie épiphysaire après la castration chez le rat adulte; récemment, des Gouttes a constaté le même phénomène dès le 6e jour chez le rat castré à la naissance.

Bien que la diminution du poids épiphysaire chez les rats hypophysectomisés et éclairés soit incontestable (Fiske), ceci peut aussi bien être dû à l'hypophysectomie qu'à l'influence de la lumière.

Quoi qu'il en soit, l'épiphyse répond aux changements d'équilibre hypophyso-hypothalamique, tels que castration, exposition à la lumière, traitement par les extraits épiphysaires. Pour simplifier le problème que présente l'antagonisme épiphyso-hypophysaire, nous avons employé la méthode d'incubation (étude in vitro).

Etude des extraits épiphysaires in vitro

Par la méthode d'incubation dans le Krebs Ringer à 38°, nous avons pu étudier in vitro l'action des extraits d'épiphyses de mouton sur l'excrétion antéhypophysaire F.S.H.

Nous avons constaté que:

1) Les demi-antéhypophyses incubées seules excrètent une quantité de FSH suffisante pour que le liquide d'incubation de 9 demi-antéhypophyses injecté en trois fractions provoque une réaction gonadostimulante chez la rate impubère de 21 jours, se traduisant au 5e jour par une croissance et une maturité folliculaire, et par une augmentation du poids des ovaires et des cornes utérines par rapport à ceux des ♀ témoins (photo 2).

2) Si on ajoute, dans le milieu d'incubation des hypophyses, de la poudre d'épiphyses de mouton, il suffit de 10 mgr de poudre pour diminuer l'excrétion d'une demi-antéhypophyse, avec 60 mgr de cette poudre on peut l'annuler (voir photo 1, l'ovaire nº 1).

3) Enfin, si on injecte le liquide d'incubation d'antéhypophyses incubées seules et le liquide d'incubation de la poudre d'épiphyses incubées seules à la même ♀ impubère, on obtient une réaction gonadotrope tout à fait comparable à celle obtenue dans le 1º, ce qui signifie que la réaction antigonadotrope (anti FSH) a lieu dans le milieu d'incubation in vitro et non sur l'animal testé (voir photo nº 2).



Fig. 1.

Ovaire d'une ♀ impubère de 25 jours ne manifestant pas de stimulation due aux hormones gonadotropes (LH et FSH) (groupes 1. 3. 8. 13. 14. du tableau I).



Fig. 2.

Ovaire d'une ♀ de 25 jours manifestant une stimulation due à l'hormone FSH (groupes 2. 4. 5. 7. 9. 10. du tableau I).

L'étude de l'action directe (in vitro) de l'épiphyse sur l'anté-hypophyse nous donne une première réponse sur le mécanisme de l'action de l'épiphyse sur la sphère génitale. L'épiphyse a une action antigonadotrope en empêchant l'excrétion hypophysaire FSH, et par conséquent diminue la réponse ovarienne, la croissance et la maturité folliculaires (voir tableau n° I et photos 1 et 2).

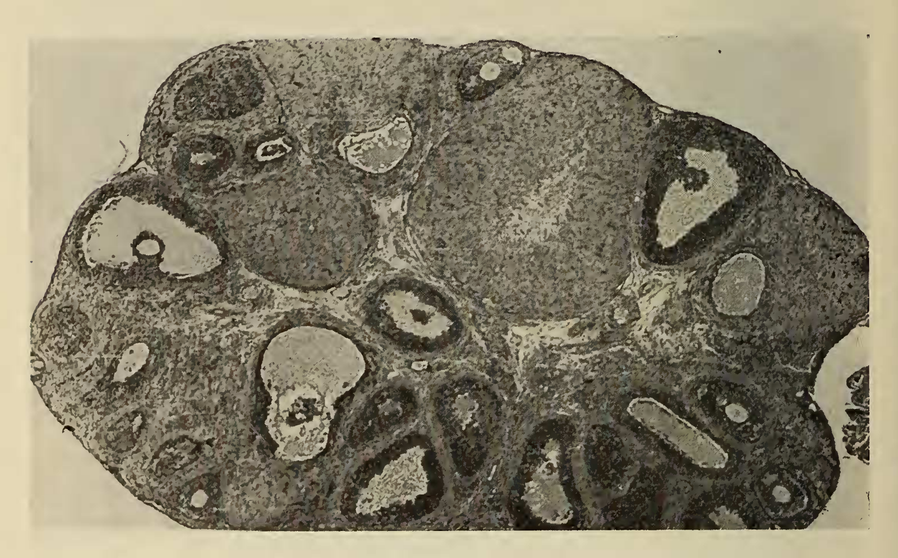


Fig. 3.
Ovaire d'une ♀ de 25 jours manifestant une forte stimulation due aux hormones gonadotropes FSH et LH (groupes 6. 11. et 12. du tableau I).

Dans nos expériences sur le cobaye (1953), dans celles de Thieblot et Simonnet chez le rat (1954), le traitement par les extraits épiphysaires empêche la formation des corps jaunes cycliques; il nous semblait donc évident qu'il devait exister dans l'épiphyse d'autres facteurs antigonadotropes, lesquels pourraient suivre une autre voie d'action que le facteur anti FSH.

De plus, deux faits nouveaux sont apparus, concernant la physiologie de l'épiphyse: 1° sa richesse en sérotonine; 2° sa richesse en mélatonine.

Nous nous sommes donc proposé d'étudier la 5 hydroxytryptamine, (sérotonine) et la 5 méthoxy-N-acetyltryptamine (mélatonine), en tant que facteurs épiphysaires.

II[e] *Partie*

LA SÉROTONINE EN TANT QUE FACTEUR ÉPIPHYSAIRE

a) *Etude in vivo*

Les rats ♂ et ♀ de 21 jours ont été injectés pendant 40 jours à la dose de 100 γ tous les 2 jours.

Nous constatons:

1) Chez les ♀ un léger retard dans le développement génital par rapport aux témoins, 2 cas seulement sur 6 présentent une atrophie ovarienne marquée, par contre les poids des hypophyses des ♀ traitées sont significativement inférieurs à ceux des témoins.

2) Chez les ♂, on constate une nette infériorité des poids des testicules des animaux traités par rapport aux témoins; de plus, le calibre des tubes séminifères est inférieur chez les traités; par contre, les glandes annexes des témoins et des traités diffèrent peu.

Ces résultats nous donnent une indication: la sérotonine peut avoir une action freinatrice de l'activité hypophysaire gonadotrope, mais in vivo cette action est difficilement contrôlable.

b) *Action de la sérotonine, étude in vitro*

Par la méthode d'incubation habituelle, nous avons étudié et comparé:

1° L'excrétion gonadotrope antéhypophysaire en présence ou en absence de sérotonine.

2° L'excrétion gonadotrope en présence et en l'absence du tissu hypothalamique.

3° L'excrétion gonadotrope en présence du tissu hypothalamique dans un milieu contenant la sérotonine et dans un milieu dépourvu de sérotonine.

4° L'excrétion hypophysaire en présence du tissu hypothalamique et de la sérotonine et l'excrétion hypophysaire seulement dans le Krebs Ringer.

Résultats

L'excrétion gonadotrope dosée sur les rates impubères de 21 jours se révèle:

1° Tout à fait comparable en présence et en l'absence de sérotonine, même à la dose de 700 γ pour une hypophyse. La sérotonine n'empêche pas l'excrétion hypophysaire habituelle.

2° Le tissu hypothalamique (2 hypothalamus pour une antéhypophyse) stimule très nettement l'excrétion hypophysaire FSH et LH.

3° La présence de la sérotonine dans le milieu d'incubation, à la dose de 100 γ pour une hypophyse, empêche la stimulation hypothalamique constatée dans le 2e cas.

4° L'excrétion hypophysaire en présence du tissu hypothalamique, mais dans un milieu contenant la sérotonine, est tout à fait comparable à l'excrétion d'une antéhypophyse incubée seule comme dans le 1° (voir tableau I).

Nos résultats in vitro confirment les expériences de Corbin, lequel injecte la sérotonine directement dans le IIIe ventricule à la dose de 25 γ tous les 5 jours, et provoque ainsi une diminution de l'activité hypophysaire. La même expérience faite sur les animaux à large lésion hypothalamique reste sans effet, et Corbin conclut que l'action de la sérotonine passe par la voie hypothalamique.

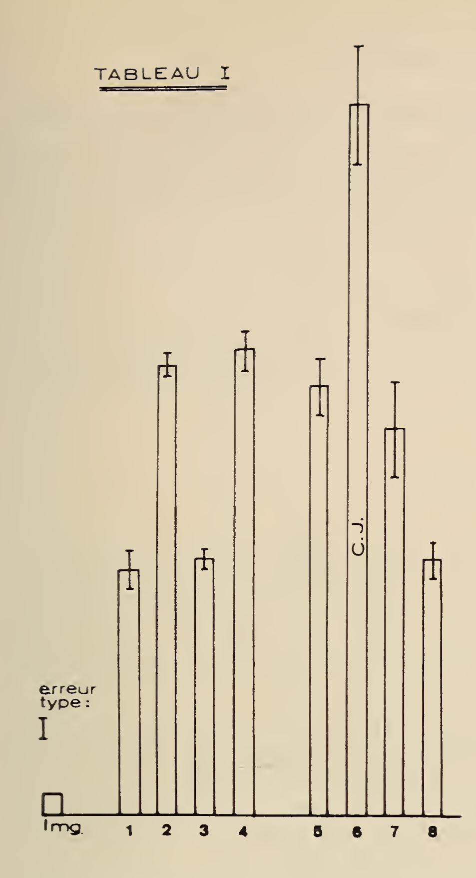
De même, dans nos expériences in vitro, la sérotonine reste sans action sur l'hypophyse, mais empêche la stimulation hypothalamique.

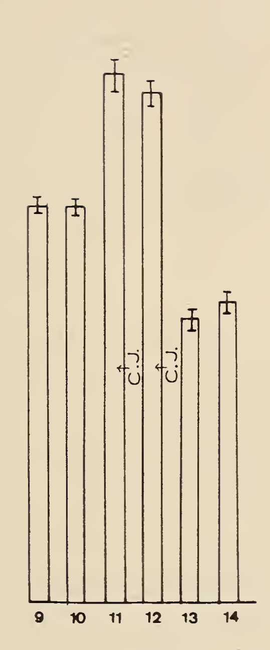
IIIe Partie

LA MÉLATONINE EN TANT QUE FACTEUR ÉPIPHYSAIRE

a) *Etude in vivo*

La mélatonine (5 methoxy-N-acetyltryptamine) se trouve dans l'épiphyse de mammifère en relativement grande quantité (Lerner). Wurtman et coll. (1962), avec des doses de 1 à 20 γ en injec-





Représentation de la moyenne des poids des ovaires des ♀ impubères ayant reçu les liquides d'incubation suivants:

1. Le Krebs Ringer seulement. Groupe témoin (photo n° 1).
2. Des antéhypophyses incubées seules (1962-1963) (photo n° 2).
3. Des antéhypophyses incubées en présence d'une poudre d'épiphyses de mouton (1962-1963) (photo n° 1).
4. Des antéhypophyses incubées seules et des épiphyses incubées seules (1962-1963) (photo n° 2).
5. Des antéhypophyses incubées en présence de la sérotonine (1962-1963) (photo n° 2).
6. Des antéhypophyses incubées en présence des hypothalamus, deux hypothalamus pour une antéhypophyse (1962-1963) (photo n° 3).
7. Des antéhypophyses incubées en présence des hypothalamus, mais dans un milieu contenant de la sérotonine (1962-1963) (photo n° 2).
8. Des hypothalamus incubées seules (1962-63-64) (photo n° 1).
9. Des antéhypophyses incubées seules (1963-64) (photo n° 2).
10. Des antéhypophyses incubées en présence de mélatonine (1963-64) (photo n° 2).
11. Des antéhypophyses incubées en présence des hypothalamus (1963-64) (photo n° 3).
12. Des antéhypophyses incubées en présence des hypothalamus, mais dans un milieu contenant de la mélatonine.
13. Des antéhypophyses incubées en présence de la poudre d'épiphyses (1963-64) (photo n° 1).
14. Des antéhypophyses incubées en présence de la poudre d'épiphyses, mais dans un milieu contenant de la mélatonine (1963-64) (photo n° 1).

tion intrapéritonéale ou sous-cutanée, après 28 jours, provoquent des troubles dans le cycle ovarien de rates de 95 gr, se traduisant par une diminution du nombre des jours de l'œstrus (test de Wurtman). Kappers (1962) avec des doses de 500 γ n'obtient pas d'action sur les ♀, mais chez le rat ♂ constate une diminution de volume des vésicules séminales.

Nous avons repris ces expériences sur les rats ♂ et ♀ Wistar de souche CF; le traitement commence à l'âge de 23 jours et continue jusqu'à l'âge de 75 jours, les doses étant de 250 γ et 500 γ injectées tous les 2 jours.

Résultats

Chez les ♂, nous ne constatons de différences ni entre le poids des testicules ni entre celui des prostates des animaux traités et des animaux témoins, toutefois dans 7 cas sur 10, les vésicules séminales du groupe traité ont un poids inférieur au plus faible poids des témoins.

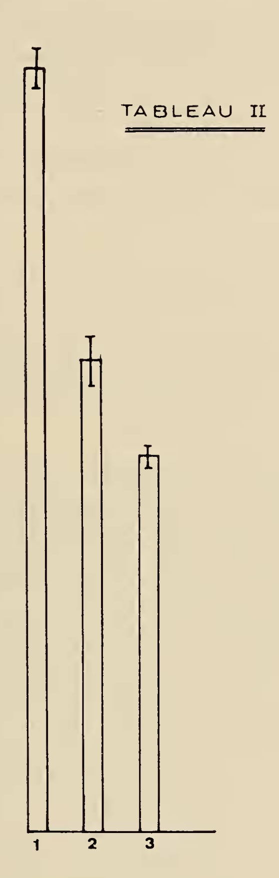
Ces résultats sont comparables à ceux obtenus sur le ♂ par Kappers, nous ne pouvons expliquer la différence de réponse des vésicules séminales et de la prostate qu'en admettant que la diminution d'androgène circulant consécutive à la diminution de LH est accompagnée par une augmentation de la prolactine circulante, laquelle agirait en synergie avec l'androgène sur la prostate (Grayhack P.L. et coll.).

Chez les ♀ traitées à la dose de 250 γ dans 8 cas sur 11 l'atrophie génitale a lieu, dans 3 cas sur 11 seulement on a constaté l'apparition de l'œstrus avant le 75e jour. Dans le groupe traité à la dose de 500 γ, c'est dans un seul cas sur 14 qu'on décèle la formation de corps jaunes cycliques succèdant à l'œstrus.

Dans plusieurs cas, on constate que malgré l'apparition de l'ouverture vaginale, les ovaires ont subi antérieurement une atrophie très marquée. De plus, les hypophyses des ♀ traitées par la mélatonine ont un poids nettement inférieur à celui des ♀ témoins (tableau II).

Ainsi, les ♀ Wistar après un traitement de 50 jours par la mélatonine H^2O Callbiochem à la dose de 250 γ et 500 γ injectés 3 fois par semaine subissent une atrophie génitale incontestable, accompagnée d'une diminution du poids hypophysaire.

Wurtman constate que la mélatonine tritiée se concentre de façon préférentielle dans l'ovaire une heure après l'injection, et émet l'hypothèse d'une action directe de la mélatonine sur l'ovaire.



Représentation de la moyenne des poids des ovaires des ♀ traitées par la mélatonine à la dose de 250 γ en injection intrapéritonéale ou de 500 γ en injection sous-cutanée. Les ♀ ont 21 jours au début du traitement et sont autopsiées à 75 jours.

1. Ovaires des ♀ témoins.
2. Ovaires des ♀ traitées par 250 γ trois fois par semaine.
3. Ovaires des ♀ traitées par 500 γ trois fois par semaine.

Nous avons introduit des cristaux de mélatonine dans l'ovaire droit de 10 ♀ à l'âge de 23 jours, et nous avons constaté que les 2 ovaires des ♀ opérées, prélevés 6 jours plus tard, sont tout à fait comparables à ceux des témoins. Les autopsies exécutées après la puberté

révèlent que les ovaires des ♀ traitées sont au moins aussi riches en gros follicules et corps jaunes cycliques que les ovaires des ♀ témoins du même âge.

En résumé, d'une part la mélatonine en injection sous-cutanée ou intrapéritonéale provoque une atrophie ovarienne incontestable, d'autre part, les cristaux de la mélatonine introduits dans un ovaire sont sans action.

Ceci nous a conduit à des expériences in vitro, afin d'examiner l'action de la mélatonine 1° sur l'antéhypophyse 2° sur l'hypothalamus.

b) *Etude de la mélatonine in vitro*

Par la méthode que nous avons employée précédemment, nous étudions l'action de la mélatonine 1° sur l'excrétion hypophysaire, 2° sur la stimulation hypothalamique, 3° sur l'inhibition épiphysaire.

1° Les antéhypophyses incubées en présence de mélatonine (400 γ pour une antéhypophyse ajoutés par fraction toutes les 30 minutes) ne changent pas le taux d'hormone gonadotrope excrétée. Les rates impubères qui reçoivent le liquide d'incubation de 9 demi-antéhypophyses incubées seules ou en présence de mélatonine ont des réactions tout à fait comparables (photo n° 2).

2° Les antéhypophyses incubées en présence du tissu hypothalamique et de mélatonine excrètent une quantité d'hormones gonadotropes supérieure à celle des antéhypophyses incubées seules. La mélatonine, dans nos conditions expérimentales, n'a pas empêché la stimulation hypothalamique du type GRF, car les ♀ impubères ayant reçu le liquide d'incubation, soit d'hypophyses incubées en présence du tissu hypothalamique, soit d'hypophyses incubées en présence du tissu hypothalamique, dans le même milieu, mais dans lequel on a ajouté de la mélatonine (comme dans le 1°) ont le même type de réponse (photo n° 3).

3° Les antéhypophyses incubées en présence de *a)* la poudre d'épiphyse de mouton et de la mélatonine ou *b)* de la poudre d'épiphyse seulement, excrètent une plus faible quantité d'hormone FSH que les antéhypophyses incubées seules.

Les rates impubères ayant reçu le liquide d'incubation de *a)* ou de *b)* ont des réponses tout à fait comparables. L'addition de

la mélatonine dans le milieu d'incubation n'a donc pas changé l'action freinatrice de la poudre épiphysaire (photo nº 1). Le tableau nº 1 illustre ces résultats.

Nous pouvons donc conclure que si la mélatonine provoque une atrophie hypophysaire et génitale in vivo, in vitro, dans les conditions décrites, elle n'a d'action ni sur la stimulation hypothalamique GRF, ni sur l'excrétion hypophysaire gonadotrope. Enfin, l'action freinatrice de la poudre épiphysaire n'est pas potentialisée par la présence de la mélatonine dans le milieu d'incubation.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

1) Les extraits épiphysaires hydrosolubles sont capables in vivo de retarder la puberté, d'entraver l'action de la lumière continue et de rétablir le cycle normal chez les rates en œstrus permanent. In vitro, la poudre épiphysaire empêche l'excrétion antéhypophysaire FSH. Ainsi, le principe épiphysaire freinateur du développement ovarien contenu dans nos extraits, agirait directement sur l'hypophyse en s'opposant à l'excrétion FSH.

2) L'action épiphysaire anti LH semble prendre une autre voie. Nos expériences avec la sérotonine démontrent un effet inhibiteur sur les stimulines hypothalamiques GRF, et posent même le problème d'une possibilité d'une stimulation des centres hypothalamiques inhibiteurs. Par contre, nous n'avons pas pu déceler d'action directe de la sérotonine sur l'hypophyse.

3) La mélatonine est capable in vivo de provoquer une atrophie ovarienne marquée, et ne montre in vitro pas plus d'action sur l'hypophyse que sur l'hypothalamus. La grande sensibilité de la mélatonine à la lumière serait-elle la raison de ces résultats négatifs ou bien au contraire ces derniers signifient-ils qu'elle agirait in vivo d'une manière toute différente de la sérotonine, et du principe actif de nos extraits épiphysaires.

En conclusion, l'effet antigonadotrope de l'épiphyse est probablement dû au moins à trois facteurs: 1º principe actif de nos extraits hydrosolubles; 2º sérotonine épiphysaire; 3º mélatonine.

Avec la collaboration technique de
Mlles G. Mesnil et A. Scemama

BIBLIOGRAPHIE

Ariëns Kappers, J. 1962. *Melatonin, a pineal compound. Preliminary investigation in its functions in the Rat.* (Abstract of Paper in the conf. of European Endocri. 1962) Gen. comp. Endocr. 2: 16 (abstr.).

Bertler, A., Bengt, F. and Owman, C. 1963. *Cellular localization of 5-hydroxytryptamine in the rat pineal gland.* Kungl. Fysio. Säll. I Lund Förh. 33: 13-16.

Corbin, A. L. and Schottelius, A. 1961. *Hypothalamic neurohormonal agents and sexual maturation of immature female rats.* Amer. J. Physiol. 201: 1176-1180.

Des Gouttes, M. N. 1964. *Etude de quelques effets de la castration pratiquée à la naissance chez le Rat mâle.* C. R. Soc. Biol., sous presse.

Farell, G. 1959. Glomerulotropic Activity of an acetone Extract of Pineal Tissue. Endocrinology, 65: 289-241.

Fiske, V. M., Bryant, G. K. and Putman, J. 1960. Effect of light in the weight of the pineal in the rat. Endocrinology, 66: 489-491.

— Pound, J. and Putman, J. 1962. *Effect of light of the Pineal organ in hypophysectomized, gonadectomized, Adrenalectomized or Thiouracil-Fed Rats.* Endocrinology, 71: 130-133.

Grayhack, J. T. P. L., Bunce, J., Kearns and Scott, W. W. 1955. *Influence of the pituitary and prostatic reponse to androgen in the Rat.* Bull. Johns Hopkins Hosp. 96: 154.

Kelly, D. E. 1962. Pineal organs: *Photoreception secretion and development.* Am. Sc., 50: 597-625.

— 1963. *The Pineal organ of the Newt; A developmental Study.* Ieitsch. für Zellfor, 58: 693-713.

Kitay, J. I. and Altschule, M. D. 1954. *The Pineal Gland.* Harvard Univ. Press, Cambridge Mass. 280 pp.

Miline, R. et Nesic, L. 1959. *Contribution à l'étude d'histo-physiologie de la Glande Pinéale.* C. R. Ass. Anat. 103: 562-565.

Moszkowska, A. 1955. *L'antagonisme épiphyso-hypophysaire.* Rev. suisse Zool. 62: 198-213.

— 1956. *L'antagonisme épiphyso-hypophysaire. Etude in vitro par la méthode de E. Wolff.* C. R. Acad. Sci. 243: 315-317.

— 1958. *L'antagonisme épiphyso-hypophysaire. Etude in vivo et in vitro chez l'embryon de Poulet Sussex.* Ann. End. 19: 69-79.

Moszkowska, A. 1959. *Contribution à la recherche des relations du complexe hypothalamo-hypophysaire dans la fonction gonadotrope. Méthode in vivo et in vitro.* C. R. Soc. Biol. 153: 1945-1948

— 1961. *Cytologie de l'antéhypophyse du rat après incubation dans l'appareil de Warburg.* Pathol. Biol. 9: 671-673.

— 1963. *L'antagonisme épiphyso-hypophysaire.* Ann. End. 24: 215-226.

— 1964. *Contribution à l'étude du mécanisme de l'antagonisme épiphyso-hypophysaire. In: Structure and function of the epiphysis cerebri.* Ed. by J. Ariëns Kappers and J. P. Schade, sous presse.

— et Des Gouttes, M. N. 1962. *L'action des extraits épiphysaires sur la réponse du tractus génital de la Ratte exposée à la lumière continue.* C. R. Soc. Biol. 156: 1750-1757.

Newman Taylor, A. et Farrell, G. 1963. *Facteur glomérulotrope.* Ann. End. 24: 228-232.

Osche, A. 1956. *Funktionelle Histologische Untersuchungen über die organe des Zwischenhirndaches der Chordaten.* Anat. Anz. 102: 404-419.

Owman, C. 1961. *Secretory activity of the fetal pineal gland of the rat.* Acta Morph. Neerl.-Scand. 3: 367-394.

Pellegrino de Iraldi, A. and de Robertis, E. 1963. *Action of the reserpine, iproniazid and pyrogallol on nerve endings of the pineal gland.* Int. J. Neuropharmacol. 2: 231-239.

Prop, N. and Ariëns Kappers, J. 1961. *Demontration of some compounds present in the pineal organ of the albino rat by hystochemical methods and paper chromatography.* Acta anat. 45: 90-109.

De Robertis, M. D. and Pellegrino de Iraldi, A. 1961. *Plurivesicular secretory processes and nerve endings in the pineal gland of the rat.* J. of biophys. and biochem. Cyt. 10: 361-372.

Quay, W. B. 1957. *Cytochemistry of pineal lipids in rat an man.* J. of Histochem. and Cytochem. 5: 145-153.

— 1963. *Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod.* Gen. and comp. Endocrinology 3: 473-479.

— and Halevy, A. 1962. *Experimental modification of the rat pineal's content of serotonin and related indole amines.* Physiol. Zool. 35: 1-7.

Thieblot, L. and Le Bars, H. La glande pinéale ou épiphyse. Maloine, Paris, 206 p.

— and Blaise, S. 1963. *Influence de la glande pinéale sur les gonades.* Ann. End. 24: 270-285.

Wurtman, R. J., Axelrod, J. and Chu, E. W. 1963. *Melatonin, a pineal substance: effect on the rat ovary.* Science 141: 277-278.

WURTMAN, R. J., AXELROD, J. and POTTER, L. T. 1964. *The uptake of H^3-melatonin in endocrine and nervous tissues and the effects of constant light exposure.* J. Pharmacol. exp. Ther. 143: 314-318.

— ROTH, W., ALTSCHULE, M. D. and WURTMANN, J. J. 1961. *Interactions of the pineal and exposure to continuous light on organ weights of female rats.* Acta Endocr., Copenhague, 36: 617-624.